

ラット血中代謝物質の日内変動に及ぼす温連浴の影響

妹 尾 敏 伸・原 田 英 雄

岡山大学温泉研究所温泉内科学部門

御 船 政 明・森 永 寛

岡山大学医学部附属病院三朝分院内科

(1985年1月9日受付)

緒 言

温泉水浴の生体への作用は、温熱、水圧、含有成分など諸因子の複合による非特異的刺激作用であると考えられている(杉山, 1983)。この場合、温泉水の pH や含有成分の影響がどのように関与しているかの解明は十分ではないが、温泉水浴と水道水浴とが異なった結果をきたすことはよく知られた事実である。

筆者らはラットを用いて、交感神経—副腎髄質系の機能を知る上で有用な指標となる血中カテコールアミン(以下 CA と略す)値を検討した結果、温泉水浴と水道水浴とでは異なった動態を示すことを明らかにし、すでに報告した(妹尾, 1981b)本報告では、ラットの血中の CA を中心として、コレステロール(以下 C と略す)、遊離脂肪酸(以下 FFA と略す)、グルコースの日内変動パターンにおよぼす温泉水浴と水道水浴との影響を比較検討した。

実験動物および方法

1. 実験動物

5週齢のウィスター系雄ラットを用い、室温約 22°C の飼育室で飼料(日本クレア, CA-1)と水道水とを自由に与え、10日間飼育後実験を開始した。温泉水浴1週間群および4週間群、水道水浴1週間群および4週間群、対照非入浴群1週間群および4週間群の計6群、各群5匹について以下の実験を行なった。

2. 動物の処置法

入浴は既に報告した如く(妹尾, 1981ab)、三朝温泉水(含食塩、重曹、放射能泉)または水道水を用いて、1日1回、40°Cで10分間、1週間と4週間の温連浴を行なった。最後の入浴の翌日、8:00, 12:00, 16:00, 20:00, 24:00の計5回、1回に5匹ずつを断頭により採血した。血液をヘパリンを加えた試験管にとり、ただちに冷却遠心分離し血漿を得た。

3. 血中代謝物質の測定

血漿中の CA, C, FFA およびグルコースの定量方法は、グルコース以外は既に報告した通りである(妹尾 1984, 1981a)。即ち、CA は高速液体クロマトグラフを用いた THI 法、C は Zak らの方法によった。また FFA およびグルコースはそれぞれ和光純薬工業の Reagent-Kit による Duncombe 法の変法と O-トルイジン、ホウ酸法によった。各群における測定値の平均の有意差検定には Student の t 検定を、日内変動パターンの有意差検定には F 検定を用い、いずれも $p < 0.05$ を有意水準とした。

結 果

1. 血中 CA の日内変動に及ぼす温連浴の影響 (Fig. 1, 2, Table 1)

a) 対照非入浴群

Fig 1, 2 に示す如く、対照非入浴群のノルアドレナリン(以下 NA と略す)は、1週間目、4週間目共に 12:00 に低値を、20:00 に頂値を示す日内変動を示した。一方、アドレナリン(以下 A と略す)は、1週間目に 16:00 にやや高値を示したが、全体的には変動の少ないパターンを示した。4週間目でも同様に平坦なパターンを示した。

b) 1週間連浴

Fig 1 に示す如く、NA は温泉水浴群では、頂値は非入浴群と同様に 20:00 に認められたが、低値は 24:00 に認められた。一方、水道水浴群では、非入浴群と同様に低値が 12:00、頂値が 20:00 となる日内変動パターンを示した。すなわち、温泉水浴群は 24:00 に有意の低値を示し ($p < 0.01$)、対照非入浴群、水道水浴群とは有意に異なる日内変動パターンを示した ($p < 0.05$)。

A は温泉水浴群では 8:00 から 20:00 まで変動の少ないパターンを示したが、24:00 には対照非入浴群および水道水浴群に比較して有意の低値を示した ($p < 0.001$)。

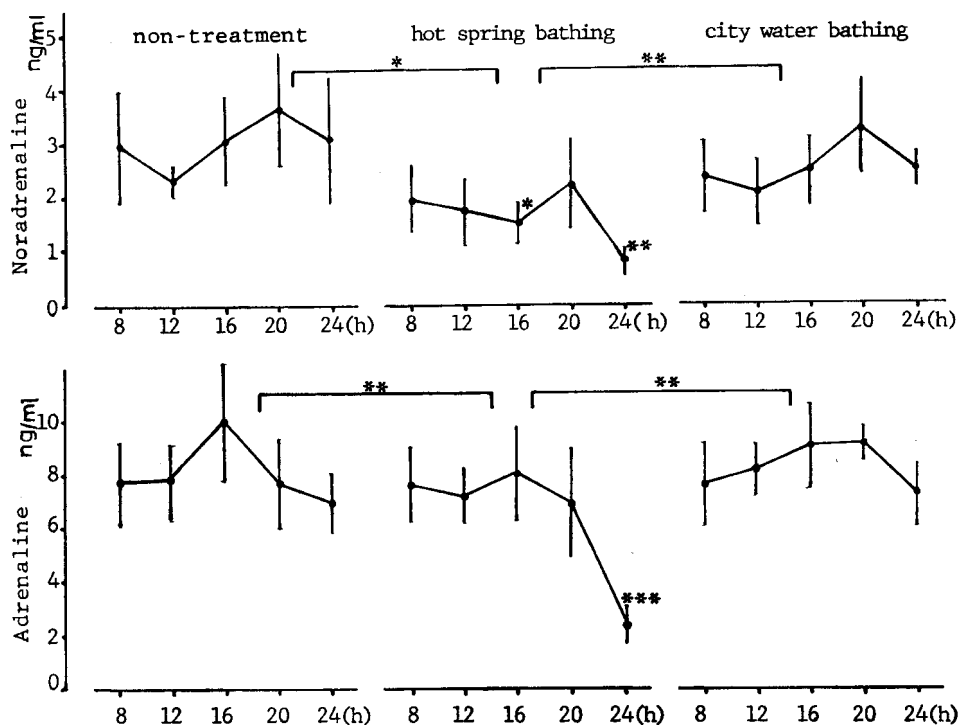


Fig. 1. Effects of 1-week serial bathing on circadian variations of plasma catecholamines in rats. Values are mean \pm SD. *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$ ***: $p < 0.001$ Adrenaline and noradrenaline show significantly lower concentrations at 24:00 hours with significantly lower 24-hour average concentrations and also with significantly different diurnal patterns in hot spring bathing rats.

Table 1. Effects of serial bathing on 24-hour average concentrations of plasma catecholamines in rats.

	1-week		4-week	
	NA	A	NA	A
Non-treated controls	3.0 \pm 0.9	8.1 \pm 1.7	3.5 \pm 1.1	8.0 \pm 1.6
Hot spring bathing group	1.7 \pm 0.7	6.6 \pm 2.5	2.8 \pm 0.6	6.4 \pm 0.7
City water bathing group	2.5 \pm 0.6	8.2 \pm 1.4	3.0 \pm 0.8	7.6 \pm 1.5

Mean values expressed in ng/ml \pm SD.

※: $p < 0.05$, ※※: $p < 0.01$, ※※※: $p < 0.001$

水道水浴群では全体的に変動の少ないパターンを示し、対照非入浴群との間に有意差を認めなかった。すなわち、温泉水浴群の日内変動パターンは、対照非入浴群や水道水浴群に比較して推計学的に有意の差異を示した ($p < 0.01$)。一方、1日5回測定の前平均値はNA、Aともに温泉水浴群では、対照非入浴群および水道水浴群に比較して推計学的に有意の低値を示した（それぞれ

$p < 0.001$, $p < 0.05$) (Table 1)。

c) 4週間連浴

Fig 2に示す如く、NAは温泉水浴群および水道水浴群では対照非入浴群に比較して平坦なパターンを示し、特に温泉水浴群でそのような傾向が認められた。しかしながらいずれの群間でも推計学的に有意なパターンの違いは認められなかった。

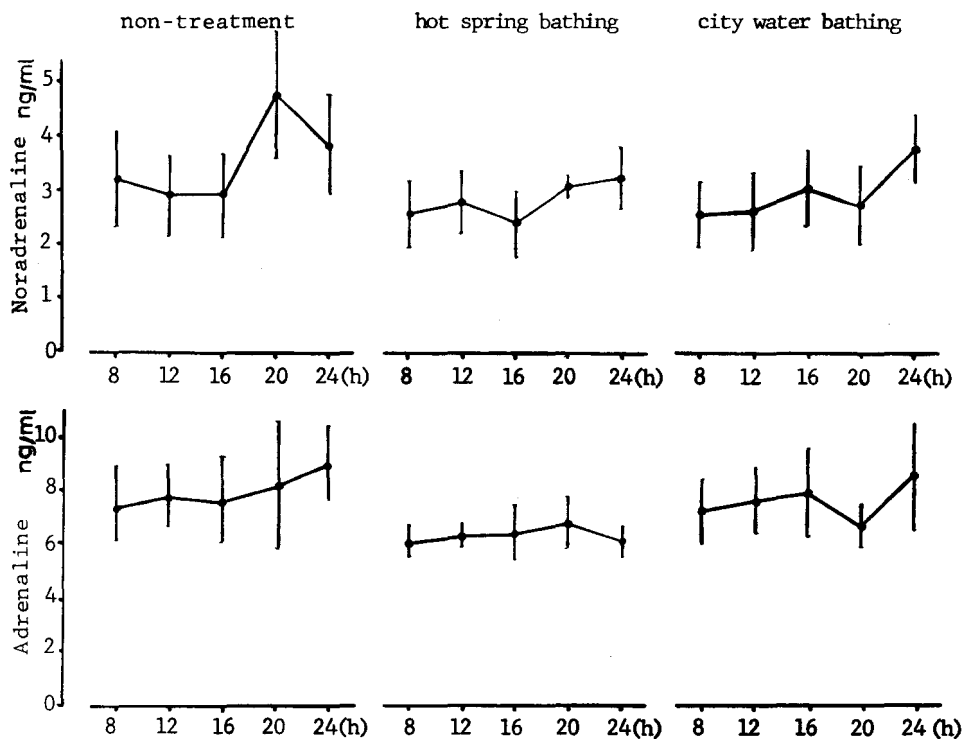


Fig. 2. Effects of 4-week serial bathing on circadian variations of plasma catecholamines in rats. Values are mean \pm SD. Three groups of rats show no significant difference in concentrations as well as diurnal patterns in noradrenaline, while in adrenaline hot spring bathing rats show significantly lower 24-hour average concentration with a diurnal pattern similar to that of the other two groups of rats.

Aに関しては温泉水浴群、水道水浴群共に対照非入浴群と同様に変動の少ないパターンを示した。一方、1日5回測定値の平均は、NAは温泉水浴群でのみ対照非入浴群に比較して有意に低下し ($p < 0.05$)、温泉水浴群と水道水浴群の間には有意差を認めなかった。

Aについては、温泉水浴群で対照非入浴群および水道水浴群に比較して有意に低下した(それぞれ、 $p < 0.001$, $p < 0.01$) (Table 1)。

2. 血中 FFA の日内変動に及ぼす温連浴の影響 (Fig 3, Table 2)

a) 対照非入浴群

Fig 3 に示す如く、対照非入浴群では1週間目、4週間目共に昼間 (12:00と16:00) に高値をとるパターンを示した。

b) 1週間連浴

温泉水浴群、水道水浴群共に昼間 (12:00または16:00) に対照非入浴群より高値となる傾向を示したが、有意差が認められたのは温泉水浴群の12:00のみであった (p

< 0.05)。またこのとき温泉水浴群と水道水浴群の間にも有意差が認められた ($p < 0.05$)。1日5回測定値の平均は特に温泉水浴群で有意の高値を示したが、日内変動パターンに関しては3群間に有意差を認めなかった。

c) 4週間連浴

温泉水浴群、水道水浴群共に16:00に頂値が認められたが、対照非入浴群との差は有意ではなかった。1日5回測定値の平均も温泉水浴群、水道水浴群共に対照非入浴群に比較して有意差は認められなかった (Table 2)。

3. 血中Cの日内変動に及ぼす温連浴の影響 (Fig 4, Table 3)

a) 対照非入浴群

Fig 4 に示す如く、対照非入浴群では1週間目、4週間目共に昼間 (8:00-16:00) はほとんど変動はなく、20:00に低値となる日内変動パターンが観察された。

b) 1週間連浴

温泉水浴群、水道水浴群の日内変動パターンは対照非入浴群に比較してやや乱れる傾向にあったが、推計学的

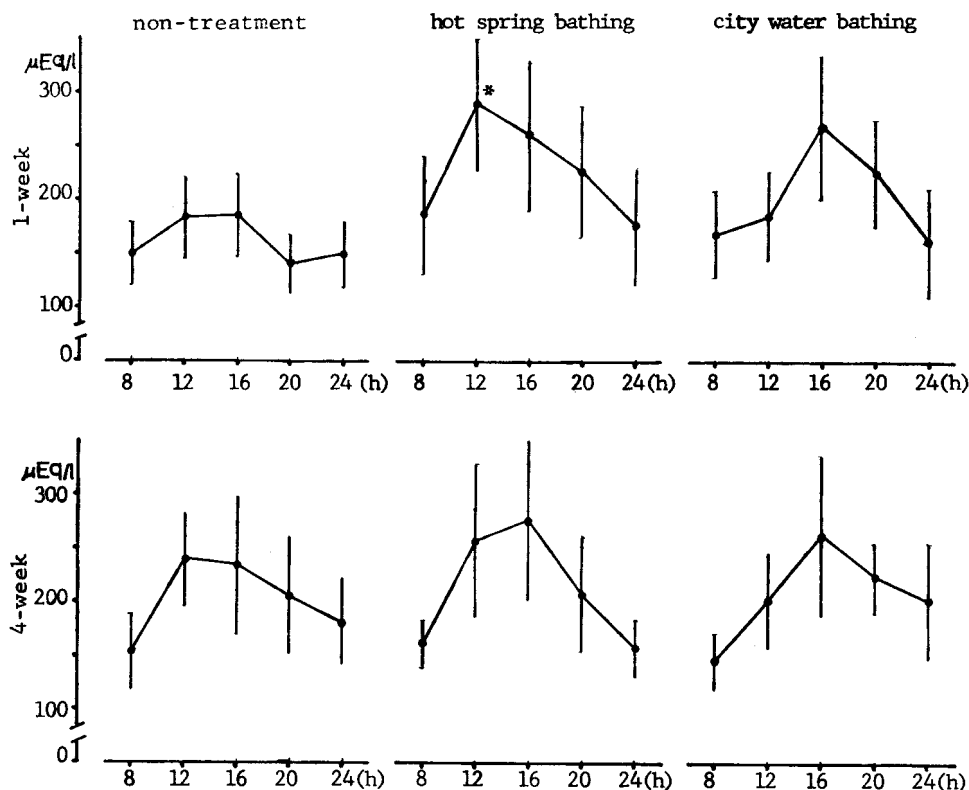


Fig. 3. Effects of serial bathing on circadian variations of plasma free fatty acids in rats. Values are mean \pm SD. *: $p < 0.05$ Free fatty acids concentration is significantly higher only in 1-week hot spring bathing rats at 12:00 hours as compared with non-treated rats and city water bathing rats. Three groups of rats show no significant difference in diurnal patterns.

Table 2. Effects of serial bathing on 24-hour average concentrations of plasma free fatty acid in rats.

	1-week	4-week
Non-treated controls	163.5 \pm 36.4	203.3 \pm 55.5
Hot spring bathing group	228.3 \pm 70.8	211.5 \pm 69.4
City water bathing group	202.8 \pm 62.1	207.2 \pm 59.6

Mean values expressed in $\mu\text{Eq/l} \pm \text{SD}$.

※: $p < 0.02$, ※※: $p < 0.001$

に有意差を認めなかった。1日5回測定値の平均も、温泉水浴群、水道水浴群共に対照非入浴群に比較して有意差を認めなかった (Table 3)。

c) 4週間連浴

温泉水浴群の日内変動は昼間 (12:00—16:00) に増

加する傾向を示したが、水道水浴群は対照非入浴群とはほぼ同様なパターンを示した。しかし推計学的には3群間に有意差を認めなかった。1日5回測定値の平均は、温泉水浴群では対照非入浴群や水道水浴群に比較して有意な低値を示した (それぞれ $p < 0.001$, $p < 0.05$)。また

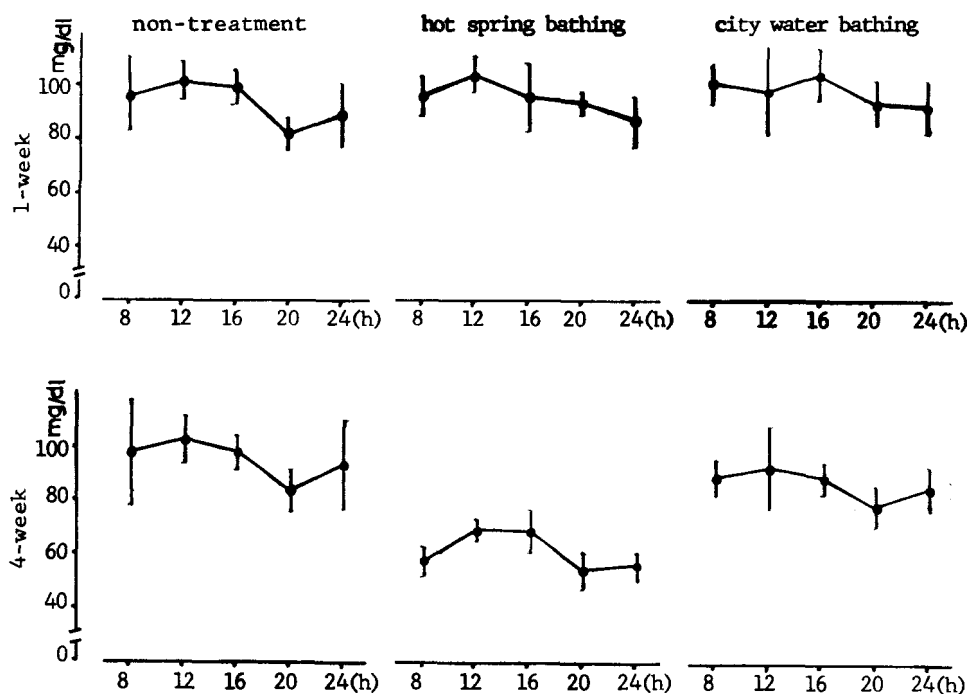


Fig. 4. Effects of serial bathing on circadian variations of plasma cholesterol in rats. Values are mean \pm SD. Three groups of rats show no significant difference in diurnal patterns. 4-week hot spring bathing rats show significantly lower 24-hour average cholesterol concentrations than the other two groups of rats.

Table 3. Effects of serial bathing on 24-hour average concentrations of plasma cholesterol in rats.

	1-week	4-week
Non-treated controls	93.3 \pm 11.2	95.5 \pm 13.2
Hot spring bating group	96.0 \pm 9.7	61.5 \pm 7.2
City water bathing group	98.8 \pm 10.6	87.8 \pm 9.6

Mean values expressed in mg/dl \pm SD.

*p < 0.05, **p < 0.001

水道水浴群でも対照非入浴群に比較して有意の低値を示した (p < 0.05) (Table 3).

4. 血中グルコースの日内変動に及ぼす温連浴の影響 (Fig 5, Table 4)

a) 対照非入浴群

対照非入浴群では1週間目, 4週間目ともに昼間 (16:00) にわずかな高値を示す日内変動パターンが認められた。

b) 1週間連浴

温泉水浴や水道水浴によって, 頂値がずれる傾向が認められたが, 日内変動パターンには有意差はなかった。1日5回測定値の平均についても3群間に有意差を認めなかった (Table 4)。

c) 4週間連浴

温泉水浴群, 水道水浴群ともに対照入浴群とはほぼ同様な日内変動パターンを認めた。また1日5回測定値の平均にも有意差は認められなかった (Table 4)。

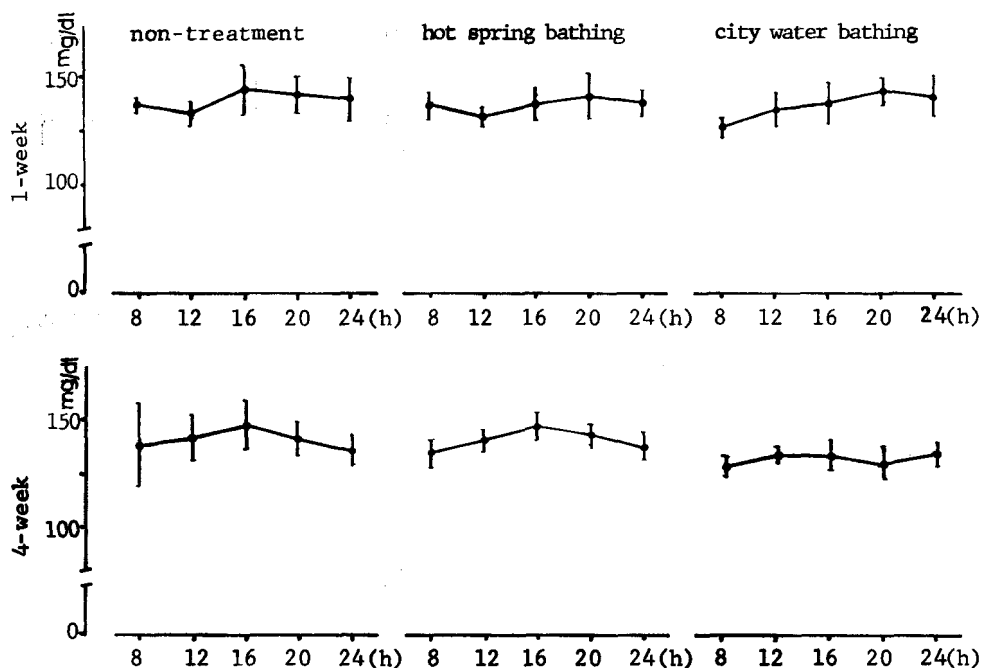


Fig. 5. Effects of serial bathing on circadian variations of plasma glucose in rats. Values are mean \pm SD. Three groups of rats show no significant difference in concentrations as well as in diurnal patterns.

Table 4. Effects of serial bathing on 24-hour average concentrations of plasma glucose in rats.

	1-week	4-week
Non-treated controls	140.3 \pm 8.6	189.4 \pm 11.7
Hot spring brthigng group	136.9 \pm 7.3	141.2 \pm 6.2
City water bathing grous1	137.5 \pm 9.2	133.2 \pm 5.2

Mean values expressed in mg/dl \pm SD.

考 察

筆者らはラットを用いて1週間の温泉水浴により血中CA値が低下することを認め、すでに報告した(妹尾, 1981 b). 本実験結果からそのような低下傾向は特に夜間(24:00)に著明に認められることが判明したが、行動が活発となる夜間に血中CA値が低下したメカニズムや生理的意義はなお明らかでない。しかし、血中CAの1日の平均値が、1週間、4週間の温泉水浴群において、水道水浴群および対照非入浴群に比較して著明に低下し

たことと併せて考慮すると、温泉水浴による交感神経—副腎髄質系機能の抑制の可能性が示唆される。Suzuki et al (1980) は、心身症の患者に10日間の温泉水浴を行ない尿中CA値の低下を認め、視床下部機能の抑制や交感神経の緊張の緩和を示唆している。ところで、30°Cの温暖な環境中で飼育されたラットでは、22°Cで飼育された場合に比較して尿中へのNAの排泄は減少しており、交感神経系の機能が抑制されていると考えられているが、尿中A値は逆に増加しているという(Shum et al 1969). Shumらの報告にみられるAの動態は本報告における温泉水浴の結果と異なるが、この相違は水道水浴ではほとんど認められないことから、温熱の継続刺激と温浴刺激の反復(1日1回、40°C、10分間水浴)との差によるとするよりも、むしろ温泉水浴そのものの作用によるものと考えられる。

1週間の温泉水浴群でのCAの日内変動パターンは、対照非入浴群や水道水浴群のそれと比較して推計学的に有意な差異が認められたが、4週間の温泉水浴群では差は認められず、さらにCAの1日の平均値の分散も4週間の温泉水浴群では、対照非入浴群や水道水浴群に比較して小さくなる傾向にあった。これらは温泉水浴のいわゆる馴れの現象とよばれる、入浴という刺激に対する一

種の適応現象と考えられる。

ラットの血中 FFA の日内変動は、昼間に増加する傾向を示したが、ヒトでは日中低く、夜間より上昇を始め早朝空腹時に最高値を示すとされており（高橋ほか，1976），夜行性のラットではヒトと逆の動態を示すことが認められた。温連浴により昼間（12：00または16：00）の値は増加する傾向にあり，1週間の温泉水浴群の12：00の値は対照非入浴群および水道水浴群に比較して有意に増加した。また，1日の平均値も特に1週間の温泉水浴群で著明に増加したと併せて考慮すると，既に報告した如く（妹尾，1981b）温泉水浴により脂肪組織からの FFA の遊離がある程度促進されることが示唆される。

血中Cの日内変動パターンはほとんど変動はなく，夜間にやや低値を示したが，ヒトでは1日を通して食事の摂取や種類による変動はほとんどなく，ほぼ一定値をとることから（DANIELSSON 1972），ラットとヒトではパターンがやや異なることが示唆された。ラットの日内変動パターンに対する1週間と4週間の温泉水浴の影響はほとんど認められなかったが，このことからCの日内変動パターン形成に関与する因子は，入浴による身体的，情動的ストレスに対して反応性が低いことが推察される。しかしながら，血中Cの1日の平均値は4週間の温泉水浴群および水道水浴群では，対照非入浴群に比較して著明に低下し，また温泉水浴群では水道水浴群よりも低下したことから，既に報告したように（妹尾ほか，1984），温泉水浴の血中C低下作用が示された。

血中グルコースの日内変動に関しては，ヒト，ラット，マウスなどで検討されている。このうち，ラットについては Pauly et al (1967) は夜間に頂値の存在することを報告しているが，Louis-Sylvestre (1978) は逆に昼間に頂値の存在することを認めており，必ずしも一致した結果は得られていない。本実験では著明な日内変動は認められなかったが，16：00に頂値をとる傾向があった。このパターンには1週間の温泉水浴および水道水浴により，頂値がずれるなどの傾向がみられたが，4週間ではほとんど変化が認められなかった。

以上，CA を中心とした血中代謝物質の日内変動に及ぼす温連浴の影響について基礎的検討を行なったが，一般に1週間連浴群では日内変動パターンに変化が生じやすく，4週間連浴群では変化がみられなくなる傾向にあった。すなわち，これは入浴による種々の刺激に対して生体が次第に適応していく現象を示すものと考えられる。

また，温泉水浴群と水道水浴群との間にCAの日内変動パターンに有意差が認められる場合があり，さらに温

泉水浴群では水道水浴群に比較してCAの1日の平均値が低下する傾向にあることから，温泉水浴は水道水浴とは異なった影響を生体に及ぼすものと考えられ，そのメカニズムとしては温泉水浴によって交感神経—副腎髓質系の機能が抑制されることが示唆された。なお，血中CAなどの変動は入浴の情動的，身体的ストレスによるものであるが，このうち情動的ストレスがどの程度影響しているか問題となる。松尾ら（1983）はラットを用いて毎日20分間体躯を棒で突く一種の情動刺激を12カ月間くり返し行ない，尿中CA値を測定した結果，NAはほとんど変化しないがAは一時期対照群に比較して著明に増加することを認めてこれを報告し，持続的な副腎髓質機能の亢進を示唆している。従って，本実験の血中CA動態から判断する限り情動的ストレスの影響は少ないと考えられる。

結 語

ラットを用いて血漿中のCA，FFA，C，グルコースの日内変動パターンに対する1週間と4週間の温泉水浴および水道水浴の影響を検討した。

1) NA，A値は1週間の温泉水浴群では対照非入浴群および水道水浴群に比較して24：00に有意の低値を示し，日内変動パターンにも有意差が認められた。また1日5回測定値の平均も有意の低値を示した。

4週間の温泉水浴群では，Aの1日5回測定値の平均のみが対照非入浴群および水道水浴群に比較して有意の低値を示した。これらの結果から，温泉水浴による交感神経—副腎髓質系に対しての抑制的な影響が考えられ，さらに温泉水浴の適応現象が示唆された。

2) FFA値は1週間の温泉水浴群において，対照非入浴群および水道水浴群に比較して12：00に有意の高値を示したが，4週間の温泉水浴群では対照非入浴群および水道水浴群との間に有意差を認めなかった。日内変動パターンは，1週間および4週間の温泉水浴群，水道水浴群，対照非入浴群の間で有意差を認めなかった。これらの結果から，1週間の温泉水浴群のFFAの高値はある程度温泉水の含有成分と関連があり，またラットはほぼ4週間の入浴により適応することが示唆された。

3) C値は4週間の温泉水浴群において，水道水浴群および対照非入浴群に比較して有意の低値を示した。しかし日内変動パターンには3群間で有意差は認められなかった。これらの結果から，以前報告したように4週間の温泉水浴による血中C低下作用が認められた。

4) グルコース値は1週間および4週間の温連浴による影響は認められず，また日内変動パターンに対しても影響はほとんど認められなかった。これらの結果から，

正常ラットでは血中グルコース値への影響はほとんどないものと考えられる。

文 献

- 1) DANIELSON, H. (1972) Relationship between diurnal variations in biosynthesis of cholesterol and bile acids, *Steroids*, **20**, 63-72.
- 2) LOUIS-SYLVESTRE, J. (1978) Feeding and metabolic patterns in rats with truncular vagotomy or with transplanted β -cells, *Am. J. Physiol.*, **235**, 119-125.
- 3) 松尾和子, 関根一郎, 藤野是常他 (1983) 長期ストレスによる実験的高血圧と尿中カテコールアミン, *医学と生物学*, **106**, 123-127.
- 4) 中野 裕, 大森芳明, 新保慎一郎 (1976) 血液・尿化学検査, *日本臨牀*, 531-542.
- 5) PAULY, J. E. and SCHEVING, L. E. (1967) Circadian rhythms in blood glucose and the effect of different lighting schedules, hypophysectomy, adrenal medullectomy and starvation, *Am. J. Anat.*, **120**, 627-636.
- 6) 妹尾敏伸 (1981 a) 温連浴による血漿成分の変動, *岡大温研報*, **51**, 43-48.
- 7) 妹尾敏伸 (1981 b) 温泉連浴の生体に及ぼす影響, *岡大温研報*, **51**, 49-52.
- 8) 妹尾敏伸, 原田英雄, 御船政明, 森永寛 (1984) ラット副腎および血清コレステロールの脂肪酸構成におよぼす温連浴の影響, *岡大温研報*, **54**, 19-24.
- 9) 杉山 尚 (1983) 温泉治療学総論, *温泉医学提要*, 日本温泉気候物理医学会編, 71-88.
- 10) SHUM, A., JOHNSON, G. E., and FLATTERY, K. V. (1969) Influence of ambient temperature on excretion of catecholamines and metabolites, *Am. J. Physiol.*, **216**, 1164-1169.
- 11) SUZUKI, J., YAMAUCHI, and KUROSAWA, M. (1980) Changes in the endocrinological system by serial immersion in a high sulfate hot spring, with special reference to evaluation on psychosomatic disease, *Tohoku J. exp. Med.*, **130**, 253-264.
- 12) 高橋善弥太, 森下博史 (1976) 血尿化学検査, *日本臨牀*, 157-163.

EFFECT OF SERIAL BATHING ON CIRCADIAN VARIATION OF PLASMA METABOLITES IN RATS

Toshinobu SENO, and Hideo HARADA

Institute for thermal Spring Research, Okayama University

Masaaki MIFUNE, and Hiroshi MORINAGA

Division of Medicine, Misasa Branch Hospital, Okayama University Medical School

Summary

The effect of serial bathing (10-minute bathing in city water or Misasa hot spring, 40°C, once daily for one or four weeks) on the circadian variations of plasma metabolites was studied in three groups of rats: hot spring bathing rats, city water bathing rats and non-treated rats. Plasma obtained by decapitation at 8:00, 12:00, 16:00, 20:00 and 24:00 hours was analysed for catecholamines (CA), free fatty acids (FFA), cholesterol (C) and glucose.

1) Noradrenaline (NA) and adrenaline (A) were significantly lower at 24:00 hours with significantly lower 24-hour average concentrations and also with significantly different diurnal patterns in the 1-week hot spring bathing rats; in the 4-week hot spring bathing rats, lower 24-hour average concentration of A was the only significant finding. The results suggest the suppressive effect of hot spring bathing on the sympathetic system or pituitary gland-adrenal medulla; they also suggest the adaptation to hot spring bathing.

2) Free fatty acids were significantly higher in the 1-week hot spring bathing rats at 12:00 hours as compared with non-treated rats and city water bathing rats. The 4-week hot spring bathing rats showed concentration of FFA not different from the remaining two groups of rats. No significant difference was noted in diurnal patterns among the three groups of rats. The results suggest that the high FFA concentrations in the 1-week hot spring bathing rats are related to the physico-chemical constituents of the hot

spring to some extent and that the rats adapt themselves to bathing during the 4-week period.

3) Cholesterol was significantly lower in the 4-week hot spring bathing rats as compared with non-treated rats and city water bathing rats; no different diurnal patterns were noted among the three groups of rats. The results suggest the suppressive effect of 4-week hot spring bathing

on plasma cholesterol concentrations as reported previously by us.

4) No Significant difference was noted in concentrations as well as in diurnal patterns of plasma glucose among the three groups of rats. The results suggest that bathing has no significant effect on concentrations and diurnal patterns of plasma glucose in healthy rats.